

**KUALITAS MIKROBIOLOGI DAN SIFAT FISIK
MADU DENGAN NEKTAR KALIANDRA PADA
BERBAGAI LEBAH MADU YANG BERBEDA
(*Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*)**

SKRIPSI

Oleh:

**Muhammad Fahmi Aziz Syukrillah
NIM. 165050109111043**



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**KUALITAS MIKROBIOLOGI DAN SIFAT FISIK
MADU DENGAN NEKTAR KALIANDRA PADA
BERBAGAI LEBAH MADU YANG BERBEDA
(*Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*)**

SKRIPSI

Oleh:

**Muhammad Fahmi Aziz Syukrillah
NIM. 165050109111043**



Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk
memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas
Peternakan Universitas Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**KUALITAS MIKROBIOLOGI DAN SIFAT FISIK
MADU DENGAN NEKTAR KALIANDRA PADA
BERBAGAI LEBAH MADU YANG BERBEDA
(*Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*)**

SKRIPSI

Oleh :

Muhammad Fahmi Aziz Syukrillah
NIM. 165050109111043

Telah dinyatakan lulus dalam ujian Sarjana
Pada Hari/Tanggal: 19 April 2018

	Tanda tangan	Tanggal
Pembimbing Utama: <u>Firman Jaya, S.Pt, MP</u> NIP. 19820308 201012 1 001
Dosen Penguji: <u>Prof. Dr. Ir. Woro Busono, MS.</u> NIP. 19560403 198103 1 002
<u>Dr. Ir. Mustakim, MP.</u> NIP. 19580604 198703 1 002

Mengetahui:
Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr.Agr.Sc. Ir. Suyadi, MS
NIP. 19620403 198701 1 001

DAFTAR ISI

Isi	Halaman
RIWAYAT HIDUP	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR.	Error! Bookmark not defined.
ABSTRACT	Error! Bookmark not defined.
RINGKASAN	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR ISI.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR TABEL	3
DAFTAR GAMBAR.....	4
DAFTAR LAMPIRAN	6
DAFTAR SINGKATAN	Error! Bookmark not defined.
BAB I PENDAHULUAN.	Error! Bookmark not defined.
1.1. Latar Belakang	Error! Bookmark not defined.
1.2. Rumusan Masalah	Error! Bookmark not defined.
1.3. Tujuan Penelitian	Error! Bookmark not defined.
1.4. Kegunaan Penelitian	Error! Bookmark not defined.
1.5. Kerangka Pikir	Error! Bookmark not defined.
1.6. Hipotesis....	Error! Bookmark not defined.
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	Error! Bookmark not defined.
2.1. Lebah Madu	Error! Bookmark not defined.

2.1.1. Lebah Madu *Apis cerana* **Error! Bookmark not defined.**

2.1.2. Lebah Madu *Apis mellifera*..... **Error! Bookmark not defined.**

2.1.3. Lebah Madu *Trigona sp* **Error! Bookmark not defined.**

2.2. Madu **Error! Bookmark not defined.**

2.3. Tanaman Kaliandra **Error! Bookmark not defined.**

2.4. Kualitas Mikrobiologi Madu **Error! Bookmark not defined.**

BAB III METODE PENELITIAN **Error! Bookmark not defined.**

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian **Error! Bookmark not defined.**

3.2. Materi Penelitian **Error! Bookmark not defined.**

3.3. Metode Penelitian **Error! Bookmark not defined.**

3.4. Tahapan Penelitian **Error! Bookmark not defined.**

3.5. Variabel Pengamatan **Error! Bookmark not defined.**

3.6. Analisa Data **Error! Bookmark not defined.**

3.7. Batasan Istilah **Error! Bookmark not defined.**

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN **Error! Bookmark not defined.**

4.1. TPC Madu Lebah *Apis mellifera*, *Apis cerana*, dan *Trigona sp* **Error! Bookmark not defined.**

4.2. Total *Yeast* Madu lebah *Apis mellifera*,
Apis cerana, dan *Trigona sp* **Error! Bookmark not defined.**

4.5. Total BAL Madu Lebah *Apis mellifera*,
Apis cerana, dan *Trigona sp* **Error! Bookmark not defined.**

4.3. Nilai pH Madu Lebah *Apis mellifera*,
Apis cerana, dan *Trigona sp* **Error! Bookmark not defined.**

4.4. Nilai Aw Madu Lebah *Apis mellifera*,
Apis cerana, dan *Trigona sp* **Error! Bookmark not defined.**

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN Error! Bookmark not defined.

5.1. Kesimpulan . **Error! Bookmark not defined.**

5.2. Saran..... **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR PUSTAKA.... Error! Bookmark not defined.

LAMPIRAN..... Error! Bookmark not defined.

DAFTAR TABEL

Nomor	Tabel	Halaman
1	Penempatan percobaan yang digunakan dalam penelitian	Error! Bookmark not defined.
2	Nilai rataan TPC madu	Error! Bookmark not defined.
3	Nilai rataan total <i>yeast</i> madu	Error! Bookmark not defined.
4	Nilai rataan total BAL madu	Error! Bookmark not defined.
5	Nilai rataan pH madu	Error! Bookmark not defined.
6	Nilai rataan Aw madu	Error! Bookmark not defined.



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Gambar	Halaman
1	Kerangka pikir penelitian	Error! Bookmark not defined.
2	Lebah madu <i>Apis cerana</i>	Error! Bookmark not defined.
3	Lebah madu <i>Apis melliera</i>	Error! Bookmark not defined.
4	Lebah madu <i>Trigona sp.</i>	Error! Bookmark not defined.
5	Tanaman kaliandra	Error! Bookmark not defined.
6	Tahapan penelitian	Error! Bookmark not defined.
7	Madu <i>Trigona sp</i> (a), madu <i>Apis mellifera</i> (b), dan madu <i>Apis cerana</i> (c)	Error! Bookmark not defined.



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Lampiran	Halaman
1	Prosedur pengenceran sampel	Error! Bookmark not defined.
2	Prosedur isolasi mikroba dengan metode sebar (<i>spread plate</i>)	Error! Bookmark not defined.
3	Pedoman penghitungan jumlah mikroba	Error! Bookmark not defined.
4	Prosedur uji pH (AOAC, 2005)	Error! Bookmark not defined.
5	Prosedur uji Aw (AOAC, 2005)	Error! Bookmark not defined.
6	Hasil pengamatan nilai TPC madu	Error! Bookmark not defined.
7	Data dan analisis statistika TPC madu..	Error! Bookmark not defined.
8	SNI 3545-2013 madu	Error! Bookmark not defined.
9	Hasil pengamatan nilai total <i>yeast</i> madu	Error! Bookmark not defined.
10	Data dan analisis statistika total <i>yeast</i> madu	Error! Bookmark not defined.
11	Hasil pengamatan total BAL madu.....	Error! Bookmark not defined.
12	Data dan analisis statistika BAL madu .	Error! Bookmark not defined.

- 13 Hasil pengamatan nilai pH madu **Error!**
Bookmark not defined.
- 14 Data dan analisis statistika nilai pH
madu **Error! Bookmark not defined.**
- 15 Hasil pengamatan nilai Aw madu **Error!**
Bookmark not defined.
- 16 Data dan analisis statistika nilai Aw
madu **Error! Bookmark not defined.**
- 17 Dokumentasi penelitian **Error! Bookmark not**
defined.





KATA PENGANTAR

Alhamdulillahahirabbil'alamin, puji bagi Allah SWT yang telah memberikan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **Kualitas Mikrobiologi Dan Sifat Fisik Madu Dengan Nektar Kaliandra Pada Berbagai Lebah Madu Yang Berbeda (*Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*)** sebagai tugas akhir untuk mendapatkan gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

Selama melaksanakan penelitian dan penyelesaian Skripsi ini penulis telah mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak H. Jamhari dan Ibu Tarmi selaku orang tua atas doa dan dukungannya baik secara moral maupun material, serta Muhammad Fathur Rahman Maulana dan Siti Fattiya Maharani saudara penulis yang memberi dorongan semangat dan motivasi.
2. Firman Jaya, S.Pt, MP., selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk memberikan pengarahan, koreksi, saran, serta bimbingan, sehingga dapat menyelesaikan Skripsi ini.
3. Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS., selaku dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang berjasa dalam kebijakan tertinggi untuk pendidikan di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.
4. Dr. Ir. Sri Minarti, MP., selaku Ketua Jurusan Fakultas Peternakan Universitas Brwijaya yang telah membantu kelancaran proses studi.
5. Dr. Agus Susilo, S.Pt., MP., selaku Ketua Program Studi Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah membantu kelancaran proses studi.
6. Dr. Ir. Mustakim, MP., selaku Ketua Minat Bagian Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah membantu kelancaran proses studi.

7. Prof. Dr. Ir. Woro Busono, MS dan Dr. Ir. Mustakim, MP, selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran.
8. Bapak Ustadi, S.Pt., M.Pt dan Ibu Dewi Masyitoh, S.Pt., M.Pt selaku pemilik peternakan PT Kembang Joyo Sriwijaya yang telah menyediakan bahan baku penelitian penulis.
9. Tim pendanaan BOPTN 2017 Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya (Research group produk lebah) yang telah membantu pendanaan penelitian
10. Tim penelitian madu, *bee bread* dan propolis : Abdul Azis, Riza Lesmana, Misbah Husolli, Rofian Henis Muslimah, Annisa Sefty Maharani, Aminatus Sholekhah, dan Linda Oktaviatus Sabtika yang membantu selama penelitian dan penyelesaian Skripsi.
11. Teman-teman SAP angkatan 2016 atas bantuannya.
12. Teman-teman kontrakan Legend Janis Wicahyo, Reza Hadim Adiwiguna, Brian Anggi Pangestu, Gagat Mugni Pradipta dan Ichwan Bayu yang membantu selama proses penyelesaian Skripsi.

Penulis menyadari dalam penulisan Skripsi ini masih terdapat kekurangan, karena kesempurnaan adalah hanya milik Allah SWT. Penulis berharap semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Malang, Maret 2018

Penulis

**KUALITAS MIKROBIOLOGI DAN SIFAT FISIK
MADU DENGAN NEKTAR KALIANDRA PADA
BERBAGAI LEBAH MADU YANG BERBEDA**
(*Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*)

SKRIPSI

Oleh :

Muhammad Fahmi Aziz Syukrillah
NIM. 165050109111043

Telah dinyatakan lulus dalam ujian Sarjana
Pada Hari/Tanggal: 19 April 2018

Pembimbing Utama:

Firman Jaya, S.Pt. MP

NIP. 19820308 201012 1 001

Dosen Penguji:

Prof. Dr. Ir. Woro Busono, MS

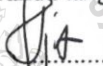
NIP. 19560403 198103 1 002

Dr. Ir. Mustakim, MP.

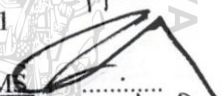
NIP. 19580604 198703 1 002

Tanda tangan

Tanggal



24/5/18



22/5/18



22-5-18



Mengetahui:

Dekan Fakultas Peternakan

Universitas Brawijaya



Prof. Dr. Agr. Sc. Ir. Suyadi, MS

NIP. 19620403 198701 1 001

**KUALITAS MIKROBIOLOGI DAN SIFAT FISIK
MADU DENGAN NEKTAR KALIANDRA PADA
BERBAGAI LEBAH MADU YANG BERBEDA
(*Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*)**

Muhammad Fahmi Aziz Syukrillah ¹⁾, Firman Jaya²⁾

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya

²⁾ Dosen Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya

E-mail: azizf3415@gmail.com

RINGKASAN

Lebah madu yang berkembang di Indonesia meliputi *Apis dorsata*, *Apis cerana* atau *Apis indica*, *Apis mellifera* dan *Trigona sp* serta masih terdapat jenis lebah madu lainnya. Madu dihasilkan dari nektar bunga. Sumber nektar bisa dari satu jenis nektar (monoflora) atau dari beberapa jenis nektar (multiflora). Nektar *Calliandra calothyrsus* merupakan salah satu sumber nektar bagi lebah madu dan dapat berbunga sepanjang tahun. Madu adalah salah satu bahan yang memiliki sifat higroskopis karena secara alami madu mengandung konsentrasi gula yang tinggi. Tingginya kelembaban udara di Indonesia membuat hasil panen madu memiliki kandungan air yang cukup tinggi. Kandungan air yang cukup tinggi akan memicu terjadinya fermentasi Mikroorganisme mampu membentuk produk baru melalui metabolisme yang dilakukannya sebagai aktivitas tunggal atau merupakan bentuk tumbuh dan aktivitas bersama. Beberapa jenis lebah madu yang mudah ditemukan dan digembalakan, serta produksinya cukup baik ialah lebah madu *Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas mikrobiologi dan sifat fisik pada madu dari lebah madu *Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*.

Materi penelitian ini adalah madu dari lebah madu *Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp* yang diperoleh dari kawasan kaliandra milik PT Kembang Joyo Sriwijaya Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang. Penelitian menggunakan metode eksperimental dengan menggunakan jenis lebah madu yang berbeda. Rancangan penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah perbedaan lebah madu (*Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*) dalam menghasilkan madu. Variabel yang di uji adalah *Total Plate Count* (TPC), *total yeast*, total Bakteri Asam Laktat (BAL), pH, dan Aw. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam apabila hasil uji menunjukkan adanya perbedaan, maka dilakukan uji lanjutan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan berbagai lebah madu memberikan perbedaan sangat nyata ($P<0,01$) terhadap nilai TPC, total BAL pH, dan Aw madu, serta memberikan perbedaan nyata ($P<0,05$) terhadap nilai *total yeast* madu. Rataan hasil analisis ragam dari madu P1 (lebah *Apis mellifera*), P2 (lebah *Apis cerana*) dan P3 (lebah *Trigona sp*) pada nilai TPC beturut-turut adalah 5,76 log cfu/g, 6,65 log cfu/g, dan 7,33 log cfu/g, kemudian diikuti dengan rataan nilai *total yeast* yaitu 5,67 log cfu/g, 7,20 log cfu/g, dan 6,59 log cfu/g, selanjutnya diikuti dengan rataan nilai total BAL yaitu 2,20 log cfu/g, 3,44 log cfu/g, dan 4,60 log cfu/g. Nilai rataan pH dari madu P1, P2 dan P3 berturut-turut adalah 4,23, 3,29, dan 3,70, diikuti dengan nilai Aw yaitu 0,788, 0,647, 0,827.

Disimpulkan bahwa madu yang dihasilkan dari tiga jenis lebah madu dengan nektar kaliandra memberikan pengaruh terhadap nilai TPC, *total yeast*, total BAL, pH, dan Aw. Madu dari lebah *Trigona sp* ditinjau dari nilai TPC tertinggi sebesar 7,33 log cfu/g, total BAL 4,60 log cfu/g dan nilai Aw 0,827. Madu dari lebah *Apis cerana* ditinjau dari

nilai total *yeast* tertinggi 7,20 log cfu/g, dan nilai pH tertinggi sebesar 4,23 terdapat dalam madu lebah *Apis mellifera*. Madu dari lebah *Apis mellifera* lebih baik bila ditinjau dari kualitas mikrobiologi dan sifat fisik.



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kota Blora, Provinsi Jawa Tengah pada tanggal 28 Oktober 1995. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan H. Jamhari dan Tarmi. Pada Tahun 2001-2007 penulis menempuh pendidikan formal di SD Negeri Sindang Sari Bogor. Tahun 2007-2010 penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 15 Bogor. Penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 8 Bogor pada tahun 2010-2013. Pada tahun 2013 penulis diterima sebagai mahasiswa program keahlian Teknologi dan Manajemen Ternak Program Diploma Insitut Pertanian Bogor melalui jalur reguler. Penulis pernah melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) sebanyak dua kali, yang pertama dilaksanakan di PT Surya Unggas Mandiri *Farm* Sukawarna Kabupaten Tangerang Provinsi Jawa Barat selama 4 minggu dan yang kedua di PT Fajar Taurus Indonesia Desa Tenjo, Kecamatan Cicurug, Kabupaten Sukabumi, Provinsi Jawa Barat selama 9 minggu. Pada tahun 2016 penulis melanjutkan pendidikan di Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya melalui jalur Seleksi Alih Program (SAP).

**QUALITY MICROBIOLOGY AND PHYSICAL
PROPERTY OF HONEY WITH KALIANDRA NECTAR
ON VARIOUS DIFFERENT HONEY BEES
(*Apis mellifera*, *Apis cerana*, and *Trigona sp*)**

Muhammad Fahmi Aziz Syukrillah ¹⁾, Firman Jaya²⁾

¹⁾ Student of Animal Product Technology in Faculty of
Animal Science, Brawijaya University

²⁾ Lecturer of Animal Product Technology in Faculty of
Animal Science Brawijaya University

E-mail: azizf3415@gmail.com

ABSTRACT

The research was aimed to compare the microbiological and physical quality honey from various honey bees. The materials of this research were honey of *Apis mellifera*, *Apis cerana* and *Trigona sp*. The research method was experimental used completely randomized design which consisted of 3 treatments and 4 replications. The treatments of this research were T1 (honey obtained from *Apis mellifera*), T2 (honey obtained from *Apis cerana*), T3 (honey obtained from *Trigona sp*). All were raised on Calliandra plant. The parameters observed were TPC (Total Plate Count), total yeast, total LAB (Lactic Acid Bacteria), pH and Aw. The resulted data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) and if it was significant, it was continued by least significant difference (LSD) test. The result showed that honey with different type of honey bees give very significant different ($P < 0.01$) to Total Plate Count (TPC), total Latic Acid Bacteria (LAB), pH and Aw value. Total yeast result showed that honey with different type of honey bees give significant different ($P < 0.05$). The highest and lowest TPC obtained by T3 7.39 log cfu/g and T1 5.76 log cfu/g. The highest and lowest total yeast obtained by T2 7.20 log cfu/g and T1 5.67

log cfu/g. The highest and lowest total Lactic Acid Bacteria (LAB) obtained by T3 4,60 log cfu/g and T1 2.20 log cfu/g. The highest and lowest pH value obtained by T1 4.23 and T2 3.49. The highest and lowest Aw value obtained by T3 0.827 and T2 0.647. It is concluded that the best quality honey reviewed from microbiological and physical property qualities is shown by *Apis mellifera*. Further research on the quality of microbiology of honey is harvested by extracting techniques extractors and using other types of honey bees.

Keyword: *Honey Bee, Honey, Total Plate Count, Total Yeast, Lactic Acid Bacteria.*



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Lebah madu merupakan hewan berkaki enam (insekta) dan tergolong dalam jenis serangga yang berdarah dingin (*poilkiloterm*). Jenis lebah madu ada dua macam lebah madu yaitu lebah bersengat dan tanpa sengat. Menurut Jaya (2017) jenis-jenis lebah madu yang telah berhasil ditemukan sebanyak 6 dari 9 jenis lebah madu, yaitu *Apis andreniformis*, *Apis dorsata*, *Apis cerana*, *Apis indica*, *Apis koschevnikovi*, dan *Apis nigrocinta*. Menurut Junus (2017) penghasilan utama dari lebah madu adalah madu. Madu sendiri merupakan produk alami yang dihasilkan dari bahan baku utamanya yaitu nektar. Nektar merupakan suatu zat yang dihasilkan oleh bunga berupa komponen gula dengan konsentrasi 7%-70% yang dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu tanah, pohon penghasil nektar, dan kelembaban udara.

Kandungan gizi madu mencakup karbohidrat, protein, asam amino, asam organik, vitamin, mineral dan enzim-enzim. Bahan dasar produksi madu adalah sari bunga tanaman berupa floral nektar atau bagian lain dari tanaman yaitu ekstra floral nektar (SNI 2013). Floral nektar berfungsi sebagai sumber karbohidrat madu, sedangkan polen atau ekstra floral nektar berfungsi sebagai sumber proteinnya (Widiarti dan Kuntadi, 2012). Komponen madu sangat beragam tergantung pada sumber nektar dan kondisi luar fermentasi madu (Arraez, Gomez, Gomez, Fernandez, dan Segura, 2006). Indonesia memiliki beberapa jenis sumber nektar madu mulai dari yang monoflora sampai dengan multiflora (Suranto, 2007). Madu

berasal dari bunga yang beragam sangat berbeda dalam penampilan dan kualitas. Menurut Sihombing (2015) faktor-faktor yang menentukan kualitas madu diantaranya adalah warna, rasa, kekentalan dan aroma.

Madu adalah salah satu bahan yang higroskopis karena secara alami madu mengandung konsentrasi gula yang tinggi. Tingginya kelembaban udara di Indonesia membuat hasil panen madu memiliki kandungan air yang cukup tinggi. Kandungan air yang cukup tinggi akan memicu terjadinya fermentasi. Pada keadaan kelembaban dan temperatur yang relatif tinggi madu akan mudah akan menyerap air sehingga makin encer dan mudah terfermentasi (Sihombing, 2015). Madu yang telah terfermentasi kurang baik bagi tujuan-tujuan tertentu karena terlalu banyak mengandung air. Pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan dapat mengakibatkan perubahan fisik atau kimia yang tidak diinginkan. Menurut SNI Madu (2013) nilai TPC madu maksimal 1×10^3 cfu/g dan nilai total *yeast* maksimal 1×10^1 cfu/g. Mikroorganisme yang tumbuh pada madu akan merugikan dan membahayakan bagi kesehatan apabila dikonsumsi. Salah satu jenis mikroba yang secara normal terdapat dalam madu adalah *yeast*. Mikroba ini tahan akan kadar gula yang tinggi, tetapi tidak memungkinkan jenis mikroba lainnya untuk tumbuh dalam madu. Kualitas mikrobiologi pada madu dari berbagai jenis lebah madu masih jarang diteliti. Standar Nasional Indonesia (SNI) tentang kualitas mikrobiologi madu selama ini hanya berasal dari madu dari lebah *Apis mellifera*. Seiring dengan berjalannya waktu, kebutuhan informasi tentang hal ini bertujuan untuk pengembangan ilmu pengetahuan dibidang perlebahan. Berdasarkan kebutuhan ini, perlu dilakukan penelitian tentang

kualitas mikrobiologi dan sifat fisik madu dari lebah madu *Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp.*

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana kualitas mikrobiologi dan sifat fisik madu yaitu diantaranya nilai TPC, total *yeast*, total BAL, pH dan Aw dari lebah madu *Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp.*

1.3. Tujuan Penelitian

Mengetahui kualitas mikrobiologi madu dan sifat fisik madu yang dihasilkan dari lebah madu *Apis cerana*, *Apis mellifera*, dan *Trigona sp* yang digembalakan pada tanaman kaliandra.

1.4. Kegunaan Penelitian

1. Menginformasikan kepada masyarakat mengenai kualitas mikrobiologi dan sifat fisik madu dari lebah *Apis cerana*, *Apis mellifera*, dan *Trigona sp.*
2. Memberikan informasi kepada industri produk perlebah di Indonesia.

1.5. Kerangka Pikir

Menurut Junus (2017) lebah madu atau lebah penghasil madu terdiri dari tiga genera yaitu apis (*honey bee*) melipona (*stingles bee*) trigona (*stingles bee*). Lebah madu memiliki kemampuan terbang berbeda-beda untuk mencari nektar bunga sehingga produksi madu dan kualitas akan berbeda. Menurut Jaya (2017) *Apis mellifera* lebah unggulan dari Australia dengan nama lengkap *Apis mellifera var ingustica* dan lebah madu *Apis cerana* lebah lokal dari Indonesia yang

dalam Bahasa Sunda disebut *nyiuran*. Menurut Lamerkabel (2011) produksi madu *Apis cerana* dalam setahun mencapai 2-5kg madu perkoloni. Menurut Jaya (2017) lebah madu *Trigona sp* sering disebut lebah klanceng dalam bahasa jawa dan *teuwel* dalam bahasa sunda. Menurut Hamzah (2011) menyatakan bahwa produksi madu *Apis cerana* dapat menghasilkan 6-12kg per koloni per tahun, *Apis mellifera* 30-60kg/koloni/tahun. Kumar, Singh and Alagumuthu (2012) menambahkan *Trigona sp* menghasilkan sekitar 600-700g/koloni/tahun.

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber pakan lebah madu adalah tanaman kaliandra. Menurut Minarti, Jaya dan Merlina (2016) tanaman kaliandra memiliki banyak kelebihan yaitu dapat berbunga sepanjang tahun, memiliki populasi yang banyak serta mudah ditemukan pada daerah bukit. Madu yang dihasilkan dari penggembalaan pada tanaman kaliandra juga banyak diminati oleh konsumen karena memiliki warna terang kuning serta aroma yang harum. Menurut Harakan (2016) madu adalah produk alami dari lebah yang mempunyai kandungan gizi hampir sempurna yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Kandungan gizi madu mencakup karbohidrat, protein, asam amino, asam organik, vitamin, mineral dan enzim-enzim.

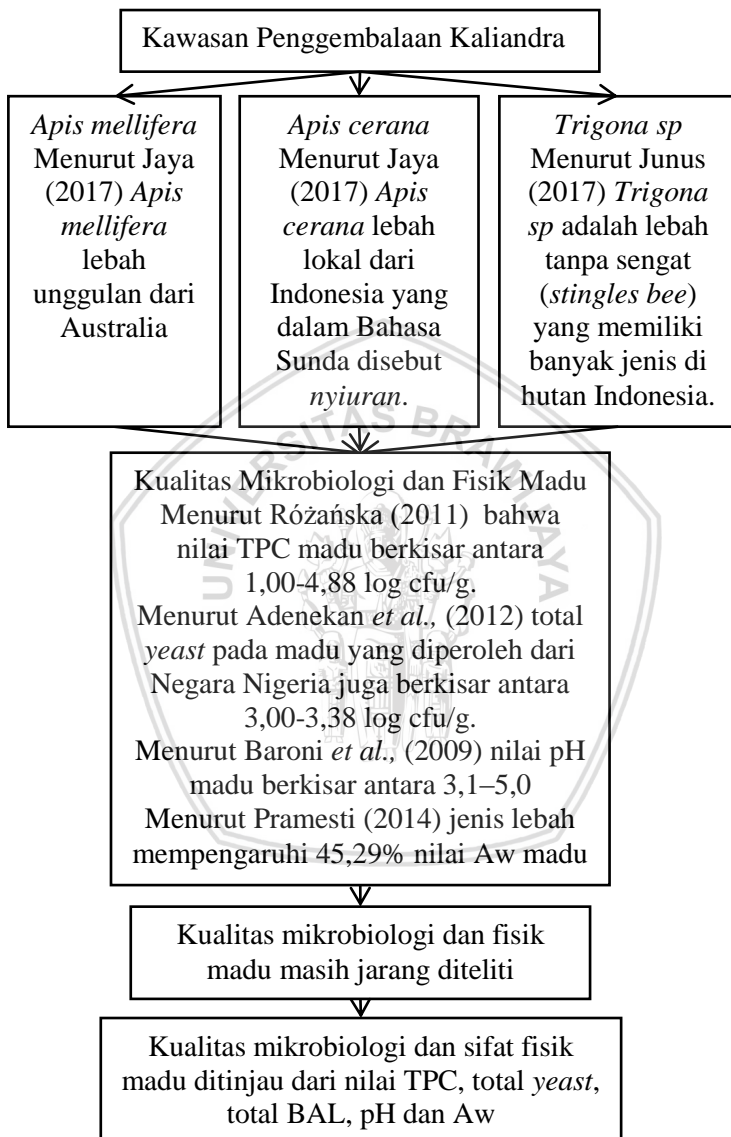
Berdasarkan hasil penelitian Chaven (2014) mikroorganisme utama yang ditemukan pada madu berasal dari nektar dan lebah madu. Menurut Rózańska (2011) menemukan bahwa nilai TPC pada madu yang berasal dari Negara Polandia baik yang monofloral (satu jenis nektar) dan multifloral (lebih dari satu jenis nektar) berkisar antara 1,00-4,88 log cfu/g. Menurut Vázquez-Quinones *et al.*, (2017) menyatakan bahwa total BAL dalam madu di wilayah mexico

lebih dari 2,00 log cfu/g terdapat dalam 15,79% sampel madu dari berbagai jenis madu. Menurut Bogdanov (2011) madu mengandung secara alami *yeast osmotolerant* dan dapat mengakibatkan fermentasi yang tidak diinginkan, serta jumlah *yeast* maksimal adalah 500.000/10g. Adenekan, Amusa, Okpeze, dan Owosibo (2012) menyatakan jumlah total *yeast* yang diperoleh dari wilayah Ijebu-Ode dan Ogere Negara Nigeria juga sangat rendah kisaran 3,00-3,38 log cfu/g. Menurut Grabowski and Clien (2015) bahwa aktivitas *yeast* dibatasi oleh kandungan air bebas, bahwa madu dari daerah lembab lebih mudah terkontaminasi dengan *yeast* dan pertumbuhan *yeast* tidak dilaporkan pada sampel madu dengan aktivitas air kurang dari 0,65. Menurut Baroni, Nores, Faye, Diaz, Chiabrando, dan Wunderlin (2009) nilai pH madu yang dikoleksi di Wilayah Utara Cordoba dan Argentina berkisar antara 3,1 dan 5,0. Kemudian dalam studi lain di India, Saxena, Gautam dan Sharma (2010) menyatakan bahwa nilai pH yang berkisar antara 3,9 sampai 4,4. Faktor penting yang menentukan aktivitas enzim dan pertumbuhan serta kelangsungan hidup mikroorganisme pada madu adalah aktivitas air. Menurut Abramovic, Jamnik, Burkan dan Kac (2007) karena *yeasts osmophilic* hanya mampu tumbuh di atas aktivitas air minimal 0,6. Menurut Pramesti (2014) jenis lebah mempengaruhi 45,29% nilai Aw madu. Menurut Chirife, Zamora dan Motto (2006) 97% nilai Aw madu dipengaruhi oleh kadar air.

Berdasarkan uraian diatas, perlu diadakannya penelitian mengenai kualitas mikrobiologi madu yang dihasilkan dari nektar kaliandra pada lebah madu *Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp.* Penelitian dengan tema seperti ini masih jarang ditemukan, sehingga dalam penelitian ini diharapkan

dapat mengetahui kualitas produk madu yang dihasilkan dari tiga jenis lebah ditinjau berdasarkan kualitas mikrobiologi dan sifat fisik madu yang ditinjau dari nilai TPC, total *yeast*, total BAL, pH dan Aw serta dapat memberikan sumber kajian ilmu terkait perlebahan di Indonesia. Maka berdasarkan uraian tersebut dibuat kerangka pikir penelitian yang dapat dilihat pada Gambar 1.





Gambar 1 Kerangka pikir penelitian

1.6. Hipotesis

Madu yang dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera* memiliki kualitas mikrobiologi yang ditinjau dari nilai TPC, total *yeast*, total BAL, pH dan Aw lebih baik dibandingkan dengan lebah *Apis cerana* dan *Trigona sp.*



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Lebah Madu

Jenis lebah madu di Indonesia pada dasarnya ada dua macam lebah madu yaitu bersengat dan tanpa sengat. Keduanya merupakan insekta yang makanannya berupa cairan manis bunga (nektar), cairan manis tanaman selain bunga (ekstra flora) dan cairan manis insekta (*sweet dew*) dan tepung sari (*pollen*). Menurut Sihombing (2015) lebah madu menghasilkan beberapa produk, seperti madu, *pollen*, propolis, malam, dan royal jelly. Lebah madu termasuk serangga sosial yang hidup berkoloni. Menurut Sarwono (2007) di dalam sebuah sarang, koloni itu terdiri atas tiga anggota, yaitu seekor lebah ratu, ratusan lebah pejantan dan ribuan lebah pekerja. Menurut Junus (2017) klasifikasi lebah madu sebagai berikut:

Kerajaan : *Animalia*
Filum : *Arthropoda*
Kelas : *Insecta*
Ordo : *Hymenoptera*
Famili : *Apidae*
Bangsa : *Apini*
Genus : *Apis*
Species : *Apis cerana*, *Apis mellifera*

2.1.1. Lebah Madu *Apis cerana*

Lebah madu *Apis cerana* merupakan lebah madu asli Asia yang menyebar dari Afganistan, Cina sampai Jepang. lebah madu *Apis cerana* telah berabad-abad dipelihara di

berbagai wilayah di Asia termasuk Indonesia. Lebah madu *Apis cerana* tersebar hampir disemua kepulauan di Indonesia. Secara umum, lebah madu *Apis cerana* mirip dengan lebah madu *Apis mellifera* subspecies Eropa, hanya saja ukuran tubuhnya lebih kecil, suka berpindah tempat, namun lebih tahan terhadap serangan predator (pemangsa) jenis-jenis tawon besar dan parasit-parasit tungau (Sihombing, 2015). Secara morfologis, ukuran tubuh. Lebah madu *Apis cerana* memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap perubahan iklim, hal ini terbukti karena lebah madu *Apis cerana* lebih aktif pada musim semi daripada musim dingin. Satu koloni terdiri dari beberapa ratus ekor lebah jantan, ribuan ekor lebah pekerja dan satu ekor lebah ratu (Sarwono, 2001). Produksi madu *Apis cerana* dalam setahun mencapai 2-5kg madu perkoloni (Lamerkabel, 2011). Tanaman berbunga sebagai sumber pakan lebah memenuhi beberapa syarat mudah diambil oleh lebah dan tersedia dalam jangkauan lebah dari sarang ± 700 m untuk *Apis cerana* (Sarwono, 2001). Lebah madu *Apis cerana* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1 Lebah madu *Apis cerana*

(sumber: Jensen (2007))

2.1.2. Lebah Madu *Apis mellifera*

Lebah madu *Apis mellifera* berasal daerah subtropis, yaitu benua eropa. Menurut Sihombing (2015) lebah madu *Apis mellifera* merupakan lebah madu yang terdapat banyak di negara-negara Eropa seperti Perancis, Yunani, Spanyol, dan Yugoslavia. Menurut Setiawan., dkk (2016) lebah madu *Apis mellifera* sangat rakus terhadap makanan sehingga perlu perawatan dan pemindahan lokasi ternak bila masa bunga habis. Lebah madu *Apis mellifera* biasanya ditenakkan oleh pengusaha lebah madu karena memiliki produksi madu dan daya adaptasinya yang tinggi. Menurut Sarwono (2007) ciri khas lebah madu *Apis mellifera* memiliki gelang berwarna kuning dibelakang abdomen, warna tubuh bervariasi coklat gelap sampai kuning hitam dan selalu menjaga sarangnya agar tetap bersih. Di daerah beriklim dingin atau berelevasi tinggi lebah ini tidak agresif dan kurang suka bermigrasi, hanya saja peka terhadap penyakit, terutama terhadap parasit tungau *varroa*. Lebah madu *Apis mellifera* memiliki produksi madu yang tinggi, lebah madu ini menghasilkan 30-60kg madu per tahun. Tanaman berbunga sebagai sumber pakan lebah memenuhi beberapa syarat mudah diambil oleh lebah dan tersedia dalam jangkauan lebah dari sarang 2-3km untuk *Apis mellifera*. Lebah madu *Apis mellifera* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2 Lebah madu *Apis mellifera*

(sumber: Ilyasov *et al.*, (2015))

2.1.3. Lebah Madu *Trigona sp*

Keistimewaan dari lebah madu *Trigona sp* ini adalah tidak mempunyai sengat (*stingless bee*). Menurut Riendriasari dan Krisnawati (2017) lebah madu *Trigona sp* mempunyai nama daerah yang berbeda, diantaranya adalah *nyanteng* (Lombok), *klanceng* (Jawa), *galo-galo* (Minang), *ketape* (Sulawesi Selatan), dan *teuweul* (Sunda). Menurut Junus (2017) lebah madu *Trigona sp* memiliki banyak jenis di hutan Indonesia. Menurut Sadam., dkk (2016) di Kalimantan Timur sudah ada laporan tentang jenis lebah madu tanpa sengat di Hutan Pendidikan Lempake Samarinda, yang ditemukan 9 jenis, yaitu *Trigona incisa*, *Trigona apicalis*, *Trigona melina*, *Trigona itama*, *Trigona fuscibasis*, *Trigona fuscobalteata*, *Trigona laeviceps*, *Trigona drescheri* dan *Trigona terminata*.

Lebah *Trigona sp* adalah lebah yang tidak memiliki sengat sebagai alat pertahanan, namun mempertahankan koloni dengan cara mengerumuni sumber gangguannya. Dalam kehidupan dan perkembangannya lebah madu *Trigona sp* sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, meliputi suhu, kelembaban udara, curah hujan dan ketinggian. Karakteristik

lebah *Trigona sp* yang kecil dan jangkauan terbang pendek hanya radius 500m membuatnya fokus pada pepohonan di sekitar sarang sehingga polinasi yang dilakukannya lebih intensif (Djajasaputra, 2010). Lebah madu *Trigona sp* menghasilkan sekitar 600-700g/koloni/tahun (Kumar *et al.*, 2012). Keunikan dari lebah *Trigona sp* yaitu menyimpan madu pada pot resin bukan pada sisiran madu dan menghasilkan lebih sedikit madu daripada produksi lebah lainnya (Ngoi, 2016). Lebah madu *Trigona sp* dapat dilihat pada Gambar 4. Klasifikasi lebah madu *Trigona sp* sebagai berikut:

Kerajaan : *Animalia*
 Filum : *Arthropoda*
 Kelas : *Insecta*
 Ordo : *Hymenoptera*
 Famili : *Apidae*
 Bangsa : *Meliponin*
 Genus : *Apis*
 Species : *Trigona laevicep*, *Trigona Trigona*
Fuscobalteata.



Gambar 3 Lebah madu *Trigona sp*
 (sumber: Kumar *et al.*, (2012))

2.2. Madu

Menurut Junus (2017) produk peternakan lebah pada dasarnya dapat dibagi menjadi 3 bagian yaitu, produk kelompok, produk yang dikumpulkan oleh lebah, produk yang di ekstraksi oleh lebah dan produk yang dipelihara oleh lebah. Madu merupakan salah satu produk yang dikumpulkan oleh lebah. Menurut SNI (2013) madu merupakan cairan yang dihasilkan lebah madu yang mengambil nektar berasal dari sari bunga tanaman (floral nektar) atau bagian lain dari tanaman (ekstra floral nektar) atau ekskresi serangga dan umumnya mempunyai rasa manis. Menurut Harakan (2016) madu adalah produk alami dari lebah yang mempunyai kandungan gizi hampir sempurna yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Kandungan gizi madu mencakup karbohidrat, protein, asam amino, asam organik, vitamin, mineral dan enzim-enzim. Menurut Sihombing (2015) komposisi madu baik secara kualitatif maupun kuantitatif sangat bervariasi tergantung beberapa faktor, diantaranya adalah sumber nektar, keadaan iklim pada saat panen, banyak tidaknya bunga, derajat kematangan madu, serta cara ekstraksi.

Menurut Jaya (2017) proses perubahan nektar menjadi madu terdiri dari dua proses, yaitu fisika dan kimia. Dalam proses kimia dinamakan invertase, sedangkan dalam proses fisika yaitu penguapan sisa-sisa air yang berlebih yang dilakukan dengan cara semua lebah mengipaskan sayapnya hingga kadar air madu kurang dari 20%. Madu dapat dibedakan menjadi dua golongan menurut proses pengambilannya, yaitu madu ekstraksi (*extracted honey*) dan madu paksa (*strained honey*). Madu ekstraksi (*extracted honey*) yaitu madu yang didapatkan dengan cara proses ekstraksi yang menggunakan alat ekstraktor dimana sarang

lebah tidak rusak. Madu paksa (*strained honey*) adalah madu yang berasal dari sarang lebah yang dirusak dengan cara pengepresan atau penekanan.

Secara umum madu berkhasiat untuk menghasilkan energi, meningkatkan daya tahan tubuh, dan meningkatkan stamina. Menurut Haviva (2011) madu dapat merangsang tumbuhnya jaringan baru, sehingga mempercepat penyembuhan dan mengurangi timbulnya parut atau bekas luka pada kulit. Beberapa asam organik dalam madu sangat bermanfaat bagi kesehatan terutama bagi metabolisme tubuh, diantaranya adalah asam oksalat, asam tartarat, asam laktat, dan asam malat. Bahkan asam laktat terdapat kandungan zat laktobasilin yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dan tumor.

2.3. Tanaman Kaliandra

Kaliandra merupakan tanaman leguminosa berupa pohon kecil atau perdu yang termasuk ke dalam keluarga *leguminosae*. Menurut Hendrati dan Hidayati (2014) tanaman kaliandra merupakan salah satu jenis pohon yang pertumbuhannya cepat, dapat beradaptasi dengan lingkungan, serta dapat digunakan sebagai pakan ternak. Tanaman kaliandra tumbuh baik di daerah dengan ketinggian 250-1800mdpl, suhu 22°C-28°C, curah hujan tahunan 2000-4000mm dengan musim kemarau 3-6 bulan (Chamberlain, 2000). Spesies *Calliandra calothyrsus* merupakan salah satu spesies kaliandra yang sangat populer di Indonesia, terutama di masyarakat yang berada pada areal kawasan hutan di pulau Jawa sebagai tanaman multiguna untuk konservasi lahan, reklamasi lahan marginal, hijauan pakan ternak, pakan lebah, penyedia pupuk hijau dan bubur kayu (*pulp*) untuk membuat

kertas. Minarti dkk (2016) menyatakan bahwa tanaman kaliandra memiliki banyak kelebihan yaitu dapat berbunga sepanjang tahun, memiliki populasi yang banyak serta mudah ditemukan pada daerah bukit. Menurut Hendrati dan Hidayati (2014) setiap tandan bunga dapat berbunga selama 90-120 hari. Masing-masing bunga biasanya mekar sekitar pukul 16.00, tetap mekar hanya selama semalam saja, dan esok harinya akan layu. Tanaman kaliandra dapat dilihat pada Gambar 5. Klasifikasi tanaman kaliandra sebagai berikut:

Kerajaan : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Sub-divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotilae*
Ordo : *Fabales*
Famili : *Fabaceae*
Sub-Famili : *Mimosoideae*
Genus : *Caliandra*
Species : *Caliandra calothyrsus*



Gambar 4 Tanaman kaliandra
(Sumber: worldoffloweringplants.com)

2.4. Kualitas Mikrobiologi Madu

2.4.1. *Total Plate Count* (TPC)

Pemeriksaan jumlah total bakteri menggunakan hitungan cawan (*Total Plate Count*). Prinsip metode hitungan cawan adalah satu sel bakteri ditumbuhkan pada media maka akan tumbuh menjadi satu koloni yang tampak oleh mata. Pengamatan dan perhitungan jumlah bakteri setelah 24-48 jam masa pemeraman. Perhitungan jumlah bakteri dilakukan dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh dan tampak oleh mata (Rofi'i, 2009). Mutu mikrobiologis pada suatu bahan pangan ditentukan oleh jumlah mikroorganisme yang terdapat dalam bahan pangan tersebut. Mutu mikrobiologis pada bahan pangan ini akan menentukan daya simpan dari produksi (Cahyono, Padaga dan Sawitri, 2013). Menurut Jaya (2017) beberapa mikroorganisme yang terdeteksi dalam madu adalah *Pseudomonas spp*, *Xanthomonas spp*, *Bacillus spp*, *E. coli* dan *Clostridium spp*.

2.4.2. *Total Yeast*

Yeast adalah fungi uniseluler yang tumbuh dan berkembang biak dengan membentuk pertunasan. Suhu optimum akan meningkatkan aktivitas metabolisme *yeast* sehingga mempercepat pertumbuhan dan meningkatkan populasinya. Menurut Suriasih, Arya, Mahardika dan Astawa (2012) *yeast* dapat tumbuh pada lingkungan psikotrof dan mesofil ($>7^{\circ}\text{C}$ - 45°C), dengan suhu optimum antara 20°C - 30°C . Menurut Osachlo (2004) *yeast* dapat tumbuh dalam kondisi pH rendah dan tingkat sukrosa yang tinggi, dan perkembangannya dipromosikan oleh pembentukan kristal glukosa, karena aktivitas air yang lebih tinggi dalam fase cair.

Menurut Kustyawati (2016) beberapa jenis *yeast* osmotoleran yang berhasil diisolasi dari produk madu yaitu *Zygosaccharomyces bailii*, *D. Hansenii*, *Torulaspora delbrueckii*, *H. Anomala* dan *Schizosaccharomyces sp.* Menurut Jaya (2017) pertumbuhan *yeast* dalam madu dapat dicegah dengan cara memanaskan madu dengan metode pasteurisasi dan mengkondisikan kadar air madu dibawah 17% atau menyimpan madu pada suhu kurang dari 11°C.

2.4.3. Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri gram positif berbentuk batang, tidak membentuk spora, bersifat anaerob, pada umumnya tidak motil, katalase negatif dan oksidase positif, dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat, dan suhu optimum $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat yaitu mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, juga mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida (Adams dan Moss, 2008). Menurut Hardiningsih, Napitupulu dan Yulinery (2006) menyatakan bahwa bakteri asam laktat dapat tumbuh pada rentang pH 2-6,5. Husmaini *et al.*, (2011) menyatakan bahwa bakteri asam laktat memiliki rentang suhu optimal $37^{\circ}\text{C} - 42^{\circ}\text{C}$.

Menurut Suardana (2007) bakteri asam laktat dapat dibedakan menjadi 2 kelompok berdasarkan hasil fermentasinya, yaitu bakteri homofermentatif dan bakteri heterofermentatif. Bakteri homofermentatif ialah glukosa difermentasi menghasilkan asam laktat sebagai satu-satunya produk contohnya yaitu *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan beberapa *Lactobacillus*. Bakteri heterofermentatif ialah glukosa difermentasikan selain menghasilkan asam laktat juga

memproduksi senyawa-senyawa lainnya yaitu etanol, asam asetat dan CO₂, contohnya yaitu *Leuconostoc* dan beberapa spesies *Lactobacillus*. Menurut Hardiningsih *et al.*, (2006) bakteri asam laktat terdiri atas 4 genus, yaitu *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, dan *Pediococcus*. Genus *Lactobacillus* mempunyai ciri-ciri: bakteri berbentuk batang/rod, gram positif, dan uji katalase negatif.

Manfaat bagi kesehatan yang berkaitan dengan bakteri asam laktat diantaranya memperbaiki daya cerna laktosa, mengendalikan bakteri patogen dalam saluran pencernaan, penurunan serum kolesterol, menghambat tumor, antimutagenik dan antikarsinogenik, menstimulir sistem imun, pencegahan sembelit, produksi vitamin B, produksi bakteriosin, dan inaktivasi berbagai senyawa beracun (Bachrudin, Astuti dan Dewi, 2000). Bakteri asam laktat penting untuk menjaga kualitas nutrisi dari bahan baku melalui masa simpan yang lama, meningkatkan makanan penyedap dan penghambatan pembusakan dan bakteri patogen pada produk makanan (Suhartatik, Cahyanto, Miyashita dan Rahayu, 2014).

2.4.4. Nilai Aw Madu

Madu merupakan larutan gula sangat jenuh, dengan aktivitas air yang rendah. Hal itu menunjukkan bahwa madu mengandung sedikit air dan kurang mendukung pertumbuhan bakteri dan *yeast*. Menurut Afrila dan Jaya (2012) *activity water* (Aw) adalah jumlah air bebas yang dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk aktivitas atau pertumbuhannya. Menurut Soepandi dan Wardah (2013) air bebas dalam pangan diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang akan digunakan untuk transpor nutrisi, pengeluaran material

limbah, melaksanakan reaksi enzimatik, sintesis komponen seluler, dan mengambil bagian reaksi biokimia yang lain seperti hidrolisis polimer menjadi monomer. Setiap mikroba mempunyai taraf *Aw* optimum, maksimum dan minimum yang berbeda untuk pertumbuhan. Secara umum nilai *Aw* pertumbuhan kapang yaitu 0,8, *yeast* 0,6-0,7 dan bakteri 0,7-0,9.

Aktivitas air bergantung pada suhu dan kadar air madu. Walaupun begitu asam madu juga memiliki pengaruh sedikit terhadap sifat aktivitas air. Berdasarkan Chirife *et al.*, (2006) 97% nilai *Aw* madu dipengaruhi oleh kadar air. Menurut Pramesti (2014) jenis lebah madu mempengaruhi 45,29% nilai *Aw* madu. Aktivitas air madu yang sering dijumpai di laboratorium pada suhu antara 4°C-37°C dengan kadar air 16% adalah 0,5 dan pada kadar 18,3% adalah 0,6. (Jaya, 2017)

2.4.5. Nilai pH Madu

Madu dapat dikelompokkan dalam makanan asam, karena memiliki pH yang cukup rendah, yaitu 3,4-6,1. Walaupun begitu, madu yang kaya akan mineral memiliki pH yang tinggi. Madu memiliki pH yang cukup rendah karena adanya kandungan asam organik dalam madu. Asam organik di dalam diantaranya adalah asetat, butirat, format, laktat, glukonat, oksalat, maleat, 2/3-fosfoglisarat, sitrat, α -ketoglutarat, glikolat, piruvat, α/β -gliserofosfat, γ -glutamat, suksinat, dan glukosa-6-fosfat. Menurut Jaya (2017) nilai keasaman madu ditentukan oleh disosiasi ion hidrogen dalam larutan air, namun sebagian besar juga terdapat berbagai mineral antara lain Ca, Na, dan K serta madu yang kaya akan mineral pH madu akan tinggi. Menurut Sihombing (2015)

rasa madu disebabkan oleh kandungan gula, dan asam organik seperti asam glukonat dan prolin, pada madu dengan rasa spesifik tak terhitung banyaknya variasi penyebab rasa tersebut seperti glukosida dan alkaloid yang khas bagi tumbuhan sumber nektar. Madu dapat menjadi agen antimikroba. Hal tersebut disebabkan kandungan gulanya yang tinggi, pH madu yang relatif asam dan kandungan proteinnya yang rendah.

Menurut Adams dan Moss (2008) keasaman berpengaruh terhadap aktivitas dan stabilitas makromolekul seperti enzim, sehingga menghambat pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme. Menurut Soepandi dan Wardah (2013) nilai pH pada madu sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan viabilitas sel mikroba dan sedikit berpengaruh terhadap 2 aspek respirasi sel mikroba, yaitu berpengaruh terhadap fungsi enzim dan transpor nutrisi ke dalam sel. Bakteri cenderung lebih sensitif terhadap perubahan pH dibandingkan kapang dan *yeast*. Secara umum, pertumbuhan bakteri paling tinggi pada kisaran pH 6-8, *yeast* pada kisaran pH 4,5-6,0 dan kapang pada kisaran pH 3,5-4,0.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan September 2017 hingga Januari 2018 yang berlokasi di:

1. Laboratorium Teknologi dan Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, untuk pengujian TPC, total *yeast* dan pH.
2. Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya, untuk pengujian Aw.
3. Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya untuk pengujian total BAL.
4. Perkebunan Kaliandra di Songgoriti Batu milik PT Kembang Joyo Sriwijaya untuk pengambilan sampel madu.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Bahan yang digunakan dalam penelitian

- 1) Bahan penelitian :
 - a. Madu kaliandra dari *Apis mellifera*
 - b. Madu kaliandra dari *Apis cerana*
 - c. Madu kaliandra dari *Trigona sp*

3.2.2. Peralatan yang digunakan dalam penelitian

- 1) Peralatan panen madu kaliandra meliputi :
 - a) Pot film 20 ml
 - b) Pisau
 - c) Kain saring
 - d) Wadah tertutup

2) Peralatan yang digunakan untuk analisis meliputi:

- a) Uji TPC, total *yeast*, dan uji total BAL : gelas ukur 100 ml, gelas 500 ml dan 1000 ml, erlenmeyer 50 ml, 500 ml dan 1000 ml, cawan petri, tabung reaksi, vortex mix 500 rpm, batang pengaduk, dan rak, mikropipet 0,1 ml dan 1 ml, timbangan analitik *merk* centarus scale max 300 g, inkubator *merk* memmert suhu 37°C-40°C, autoklaf elektrik, *waterbath* 50-90°C, *hotplate* 100°C & *stirrer* 30 mm, 500 rpm *merk* ikamag ret, refrigerator *freezer* 4°C-7°C, botol spray, korek api, dan bunsen.
- b) Uji pH : pH meter
- c) Uji Aw : Aw meter

3.3. Metode Penelitian

Metode penelitian ini adalah metode *experimental* dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 3 perlakuan dan 4 ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA). Penempatan percobaan yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1. Lebah yang digunakan digembalakan pada kawasan nektar kaliandra. Perlakuan penelitian sebagai berikut:

P1: Lebah madu *Apis mellifera*

P2: Lebah madu *Apis cerana*

P3: Lebah madu *Trigona sp*

Tabel 1. Penempatan percobaan yang digunakan dalam penelitian

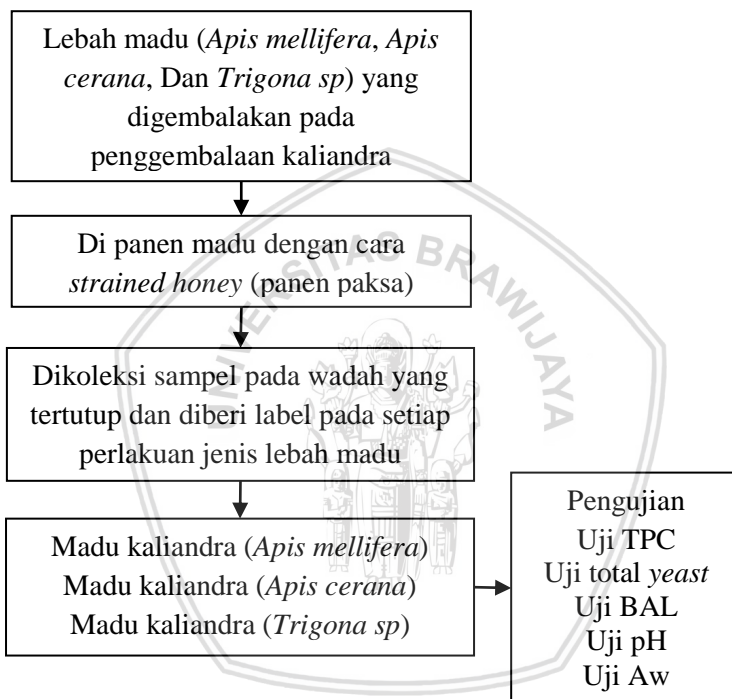
Perlakuan	Ulangan			
	U1	U2	U3	U4
P1	P1U1	P1U2	P1U3	P1U4
P2	P2U1	P2U2	P2U3	P2U4
P3	P3U1	P3U2	P3U3	P3U4

Pengembalaan ketiga jenis lebah tersebut berlokasi di daerah Songgoriti yang dekat dengan mayoritas tanaman kaliandra dengan jarak ± 5 m stup-stup lebah, namun masih pula terdapat jenis tanaman lainnya. Ketiga jenis lebah madu telah digembalakan selama 3 bulan. Sampel madu diambil pada sisiran sarang lebah yang telah berumur sekitar 3-4 minggu pada panen ketiga atau bulan ketiga pengembalaan. Pengambilan madu dilakukan pada saat musim hujan. Pada musim hujan produksi nektar yang cukup melimpah. Pengambilan madu masing-masing dilakukan pada 4 stup lebah yang berbeda pada lebah setiap madu *Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp* yang digunakan sebagai ulangan. Tahapan penelitian dapat dilihat pada Gambar 6.

Pengambilan madu dilakukan pada sisiran (*frame*) lebah yang telah matang. Pengambilan madu dilakukan dengan cara pemerasan (*strained honey*) yang dilakukan secara manual menggunakan kain saring yang bersih. Penyaringan madu bertujuan untuk memisahkan madu dengan sisiran lebah, lebah, dan debu. Madu kemudian dimasukkan ke dalam tempat tertutup yaitu pot film dan diberi label sesuai perlakuan. Sampel madu dapat dilihat pada Gambar 7. Pemilihan pengambilan sampel madu memperhatikan kualitas secara fisik. Setelah proses pengambilan sampel, kemudian

madu disimpan dalam *refrigerator* pada kisaran suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ untuk menjaga kualitas dari sampel madu.

3.4. Tahapan Penelitian



Gambar 1 Tahapan penelitian

3.5. Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan dalam penelitian mikrobiologi dan sifat fisik madu meliputi TPC, total BAL, total *yeast*, pH dan Aw di ujikan pada sampel madu. Analisis prosedur pengujian madu yaitu:

1. TPC

Penghitungan TPC ini bertujuan untuk mengetahui jumlah koloni mikroorganisme pada sampel yang telah diidentifikasi. Perhitungan TPC dilakukan terhadap madu untuk ditumbuhkan pada media Plate Count Agar (PCA). Mikroorganisme yang telah diisolasi, diencerkan terlebih dahulu sebelum ditumbuhkan pada media PCA (Ulfiana, Mahasri dan Suprpto, 2012).

2. Total BAL

Perhitungan total Bakteri Asam Laktat dilakukan dengan cara sebanyak 1 ml madu yang telah dilarutkan dimasukkan ke dalam 9 ml pepton, lalu dikocok sehingga terbentuk suspensi (pengenceran 10^{-1}). Prosedur pengenceran dapat dilihat pada Lampiran 1. Pengenceran dilanjutkan hingga seri pengenceran 10^{-6} . Dimasukkan sebanyak 1 ml dari pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} disebarkan di atas medium MRSA agar yang telah memadat dalam cawan petri dan diratakan menggunakan *dryglaski* (*spread plate*). Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 24 jam dengan posisi cawan petri terbalik (Hidayat, Kusrahayu dan Mulyani, 2013).

3. Total *yeast*

Penanaman kultur mikroba dilakukan dengan menggunakan media biakan PDA sebanyak 48g ke dalam 1000ml aquades, kemudian larutan PDA tersebut dipanaskan hingga mendidih dilanjutkan sterilisasi. Pencawanan dilakukan dengan memasukkan 1 ml sampel hasil pengenceran ke dalam cawan petri (Aristya dkk., 2013). Prosedur isolasi mikroba dengan metode sebar (*spread plate*) dapat dilihat pada Lampiran 2.

Perhitungan jumlah mikroba untuk TPC, total Bakteri Asam Laktat dan total *yeast* berdasarkan pedoman

penghitungan jumlah mikroba (*Food and Drug Administration*, 2001), dapat dilihat pada Lampiran 3. rumus perhitungan mikroba yaitu:

$$\text{Jumlah bakteri/g} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

4. Uji pH, prosedur pengujian mengacu pada (AOAC, 2005). Prosedur pengujian pH dapat dilihat pada Lampiran 4.
5. Uji Aw, prosedur pengujian mengacu pada (AOAC, 2005). Prosedur pengujian Aw dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.6. Analisa Data

Data yang diperoleh dari uji *Total Plate Count* (TPC), total *yeast*, total BAL (Bakteri Asam Laktat), pH dan Aw dianalisis menggunakan bantuan program *microsoft excel*, kemudian akan dianalisis statistik menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dirancang dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan model linear sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = pengamatan pada perlakuan ke 1-3

μ = nilai rata-rata

T_i = pengaruh perlakuan ke 1-3

ε_{ij} = galat percobaan pada perlakuan ke 1-3

Kemudian apabila hasil uji menunjukkan adanya perbedaan, maka dilakukan uji lanjutan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

3.7. Batasan Istilah

<i>Apis mellifera</i>	:	Merupakan lebah unggulan dari Australia dengan nama lengkapnya <i>Apis mellifera var ingustica</i> .
<i>Apis cerana</i>	:	Merupakan lebah lokal Indonesia yang dalam Bahasa Sunda disebut nyiruan atau Bahasa Jawa adalah tawon.
<i>Trigona sp</i>	:	Merupakan lebah lokal Indonesia yang dalam Bahasa Sunda <i>tuewel</i> atau Bahasa Jawa adalah <i>klanceng</i> .
Nektar	:	Cairan manis kaya dengan gula yang diproduksi bunga dari tumbuh-tumbuhan sewaktu mekar untuk menarik kedatangan hewan penyerbuk seperti serangga.
Madu kaliandra	:	Madu merupakan cairan yang dihasilkan lebah madu yang mengambil nektar berasal dari nektar tanaman kaliandra
Uji TPC	:	Pemeriksaan jumlah total mikroorganisme pada madu menggunakan hitungan cawan.
Uji total yeast	:	Pemeriksaan jumlah total yeast pada madu menggunakan hitungan cawan.
Uji pH	:	Pemeriksaan kadar pH madu menggunakan pH meter berserta larutan pH 4 dan pH 7.
Uji Aw	:	Pemeriksaan aktivitas air pada

- Uji Total BAL : madu menggunakan Aw meter.
 : Pemeriksaan jumlah total bakteri asam laktat madu menggunakan hitungan cawan
- Pengenceran : Melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam air sehingga lebih mudah penanganannya yang bertujuan untuk mengurangi kepadatan mikroba yang ditanam.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. TPC Madu Lebah *Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*

Total Plate Count (TPC) adalah metode untuk menentukan total mikroorganisme heterogen dalam madu. Hasil pengamatan nilai TPC madu dapat dilihat pada Lampiran 6. Nilai TPC digunakan untuk menentukan kualitas madu dalam hal total mikroorganisme. Nilai rata-rata TPC madu disajikan pada Tabel 2. Perhitungan hasil analisis *Total Plate Count* menggunakan ANOVA disajikan pada Lampiran 7.

Tabel 1. Nilai rata-rata TPC madu

Perlakuan Tiga Jenis Lebah Madu	TPC (log cfu/g)
P1 (Lebah <i>Apis mellifera</i>)	5,76 ^a ±0,66
P2 (Lebah <i>Apis cerana</i>)	6,65 ^a ±0,13
P3 (Lebah <i>Trigona sp</i>)	7,33 ^b ±0,15
Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada masing-masing perlakuan (P<0,01).	

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan tiga jenis lebah madu memberikan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01) terhadap *Total Plate Count* (TPC) madu. Rataan tertinggi ditunjukkan oleh P3 lebah *Trigona sp* sebesar 7,33 log cfu/g dan rata-rata terendah ditunjukkan oleh P1 lebah *Apis mellifera* sebesar 5,76 log cfu/g. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) madu no 3545:2013 menyatakan

bahwa nilai TPC madu $< 1 \times 10^3$. SNI Madu dapat dilihat pada Lampiran 8. Menurut Róžańska (2011) menemukan bahwa nilai TPC pada madu yang berasal dari negara Polandia baik yang monofloral (satu jenis nektar) dan multifloral (lebih dari satu jenis nektar) berkisar antara 1,00-4,88 log cfu/g. Menurut Omafuvbe dan Akanbi (2009) menemukan nilai TPC madu komersial di Negara Nigeria berkisar antara 3,00-3,70 log cfu/g. Nilai TPC madu P1 (*Apis mellifera*) sebesar 5,76 log cfu/g sudah baik. Nilai TPC dari berbagai lebah madu yang di dapatkan tinggi, hal ini disebabkan karena kelembaban di Indonesia yang relatif tinggi. Menurut Sihombing (2015) madu akan mudah menyerap air dan terfermentasi pada keadaan kelembaban dan temperatur yang tinggi. Cemaran mikroorganisme pada madu dapat berasal dari nektar dan lebah madu. Hal ini sesuai dengan pendapat Chaven (2014) mikroorganisme yang ditemukan dalam madu berasal dari nektar dan lebah madu. Tingginya nilai TPC madu dari lebah *Trigona sp* dapat juga disebabkan oleh kontaminasi pada saat pemanenan. Hal ini sesuai dengan pendapat Mendes *et al.*, (2009) kontaminasi madu dapat terjadi melalui sumber primer (serbuk sari, nektar bunga, debu, tanah dan tubuh dan saluran pencernaan lebah) atau melalui sumber sekunder, selama ekstraksi atau pengolahan.

Hasil uji lanjutan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) menunjukkan bahwa madu P3 (*Trigona sp*) memberikan nilai TPC paling tinggi. Hal ini diduga karena madu dari lebah *Trigona sp* memiliki kadar air yang tinggi, sehingga pertumbuhan mikroorganisme dapat bertumbuh dengan baik. Menurut Sabtika (2018) menyatakan bahwa kadar air madu dari lebah *Trigona sp* sebesar 35%. Kadar air

yang tinggi pada madu lebah *Trigona sp* disebabkan oleh tingginya Aw air madu *Trigona sp*. Menurut Sopandi dan Wardah (2013) air tidak dianggap nutrisi, tetapi sangat penting sebagai media reaksi biokimia yang diperlukan untuk sintesis massa sel dan energi. Beberapa jenis mikroorganisme yang terdapat dalam madu menurut Jaya (2017) ialah *Pseudomonas spp*, *Xanthomonas spp*, *Bacillus spp*, *E. coli* dan *Clostridium spp*. Menurut Cooper (2005) mengemukakan bahwa bakteri *osmotolerant* yang paling banyak adalah *Staphylococci*.

4.2. Total Yeast Madu lebah *Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*

Yeast merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang merugikan dalam madu. Total *yeast* merupakan parameter yang digunakan untuk mengetahui jumlah *yeast* yang tumbuh pada madu. Hasil pengamatan nilai total *yeast* madu dapat dilihat pada Lampiran 9. Nilai rata-ran total *yeast* tiga jenis madu disajikan pada Tabel 3. Perhitungan hasil analisis total *yeast* menggunakan ANOVA disajikan pada Lampiran 10.

Tabel 2. Nilai rata-ran total *yeast* madu

Perlakuan Tiga Jenis Lebah Madu	Total Yeast (log cfu/g)
P1 (Lebah <i>Apis mellifera</i>)	5,67 ^a ±0,47
P2 (Lebah <i>Apis cerana</i>)	7,20 ^b ±1,03
P3 (Lebah <i>Trigona sp</i>)	6,59 ^a ±0,13

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada masing-masing perlakuan

($P < 0,05$).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan tiga jenis madu memberikan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) terhadap total *yeast* madu. *Yeast* tahan terhadap kadar gula yang tinggi, sehingga dapat memfermentasi gula dalam madu menjadi karbondioksida dan alkohol. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) madu no 3545:2013 menyatakan bahwa cemaran mikroba kapang dan *yeast* madu $< 1 \times 10^1$. Menurut penelitian Sodré *et al.*, (2007) madu yang dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera* di Negara Bagian Piauí Brazil terkontaminasi oleh *yeast* antara 1,00–2,78 log cfu/g. Menurut Adenekan *et al.*, (2012) jumlah total *yeast* madu yang diperoleh dari wilayah Ijebu-Ode dan Ogere Negara Nigeria juga sangat rendah kisaran 3,00–3,38 log cfu/g. Nilai total *yeast* madu pada P1 (*Apis mellifera*) sebesar 5,67 log cfu/g sudah cukup baik. Tingginya nilai total *yeast* diduga adanya kontaminasi pada saat proses pemanenan dan nektar. Hal ini didukung oleh pernyataan Olga *et al.*, (2012) Nektar itu sendiri memiliki beberapa mikroba yang berhubungan dengan lebah dan *yeast* adalah pada lingkungan floral nektar. Salah satu upaya untuk mencegah pertumbuhan *yeast* pada madu adalah dengan mengontrol kadar air madu dan menyimpannya ditempat yang sejuk. Hal ini sesuai dengan pendapat Jaya (2017) upaya yang dapat dilakukan untuk mencegah pertumbuhan *yeast* dengan cara memanaskan madu dengan metode pasteurisasi dan mengkondisikan kadar air madu dibawah 17% atau menyimpan madu pada suhu kurang dari 11°C.

Hasil uji lanjutan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) menunjukkan bahwa P2 (*Apis cerana*) memberikan

nilai total *yeast* paling tinggi. Hal ini diduga karena *yeast* dapat tumbuh dengan baik pada madu dari lebah *Apis cerana* yang memiliki kadar gula pereduksi yang tinggi dan pH rendah. Menurut Sabtika (2018) kadar gula pereduksi madu dari lebah *Apis cerana* sebesar 65,11%. Osachlo (2004) menyatakan bahwa *yeast* dapat tumbuh dalam kondisi pH rendah dan tingkat sukrosa yang tinggi, serta perkembangan *yeast* dipromosikan oleh pembentukan kristal glukosa, karena aktivitas air yang lebih tinggi dalam fase cair. *Yeast* juga dapat berkembang dengan baik sejalan dengan aktivitas air bebas yang terkandung dalam madu. Hal ini sesuai dengan pernyataan Grabowski and Clie (2015) bahwa aktivitas *yeast* dibatasi oleh kandungan air bebas, bahwa madu dari daerah lembab lebih mudah terkontaminasi dengan *yeast* dan pertumbuhan *yeast* tidak dilaporkan pada sampel madu dengan aktivitas air lebih dari 0,65. Menurut Wulandari (2017) *yeast* penyebab fermentasi pada madu adalah *yeast osmophilic* dari genus *Zygosaccharomyces* yang tahan terhadap konsentrasi gula tinggi, sehingga dapat hidup dan berkembang dalam madu. Menurut Kustyawati (2016) *yeast Zygosaccharomyces rouxii* toleran terhadap gula dan dapat tumbuh pada lingkungan dengan kadar gula 60-70%. *Yeast* di dalam madu akan mendegradasi gula, khususnya dekstrosa dan levulosa menjadi alkohol dan CO₂, sehingga berpengaruh terhadap kandungan dekstrosa (glukosa) dan levulosa (fruktosa) madu.

4.3. Total BAL Madu Lebah *Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*

Bakteri asam laktat (BAL) adalah salah satu jenis bakteri gram positif yang tumbuh di dalam madu. Bakteri asam laktat mampu tumbuh dalam kadar gula yang tinggi seperti madu. Hasil pengamatan nilai total BAL madu dapat dilihat pada Lampiran 11. Nilai rata-ran total BAL madu disajikan pada Tabel 4 Perhitungan hasil analisis total BAL madu menggunakan ANOVA disajikan pada Lampiran 12.

Tabel 3 Nilai rata-ran total BAL madu

Perlakuan Tiga Jenis Lebah Madu	Total BAL (log cfu/g)
P1 (Lebah <i>Apis mellifera</i>)	3,20 ^a ± 1,56
P2 (Lebah <i>Apis cerana</i>)	3,34 ^a ± 0,35
P3 (Lebah <i>Trigona sp</i>)	4,60 ^b ± 0,17

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata pada masing-masing perlakuan ($P < 0,01$).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan tiga jenis madu memberikan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap total BAL madu. BAL merupakan salah satu jenis bakteri gram positif yang tumbuh di dalam madu. Pada saat ini tidak terdapat Standar Nasional mengenai nilai total BAL madu. Penentuan kadar kualitas madu berdasarkan total BAL yang terkandung belum menjadi acuan mengenai kualitas madu. Menurut penelitian Olofsson dan Vásquez (2008) menyatakan bahwa mikrobiota BAL yang terdapat dalam

madu terdiri dari genera *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*, hidup dalam hubungan simbiotik dengan lebah madu di perut madu mereka. BAL sendiri dianggap aman dan dapat memainkan peran penting dalam madu karena memiliki kemampuan untuk memproduksi zat generik seperti asam organik dan bakteriosin yang dapat menghambat atau menghancurkan gram negatif dan patogen. Hal ini sesuai dengan pernyataan Aween *et al.*, (2012) sebagian besar aktivitas antimikroba madu disebabkan oleh metabolit yang diproduksi oleh BAL, seperti asam organik dan bakteriosin. Kehadiran BAL pada madu merupakan keuntungan tambahan bagi khasiat madu. Menurut Vázquez-Quinones *et al.*, (2017) bahwa total BAL madu di seluruh wilayah Negara Mexico sebesar 1,00-2,00 log cfu/g yang dalam terdapat 15,79% sampel madu dari berbagai jenis madu. Nilai rata-ran total BAL madu dari lebah *Apis mellifera* sebesar 2,20 log cfu/g sudah cukup baik.

Hasil uji lanjutan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) menunjukkan bahwa madu P3 (*Trigona sp*) memberikan nilai total BAL paling tinggi. Nilai total BAL madu lebah *Trigona sp* sebesar 4,60 log cfu/g. Hal ini nilai kerana pH madu P3 (*Trigona sp*) sebesar 3,7. Menurut Istinah dan Gunawan (2017) menyatakan bahwa kenaikan asam laktat selalu diikuti penurunan pH. Ditambahkan oleh Husmarini *et al.*, (2011) bakteri asam laktat mampu hidup pada rentang pH 2,0-6,5. Menurut Aween *et al.*, (2012) kehadiran BAL dalam madu bisa jadi satu dari kriteria yang layak dipertimbangkan dalam pemilihan madu untuk farmasi, perawatan kesehatan, dan aplikasi produk makanan. Menurut Puspawati, Nuraida dan Adawiyah (2010) menyatakan bahwa kematian BAL disebabkan oleh beberapa faktor seperti ketersediaan nutrisi

pada media berkurang, energi cadangan dalam sel habis, adanya penumpukan asam dan metabolit lainnya.

4.4. Nilai pH Madu Lebah *Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*

Nilai pH merupakan salah sifat fisik madu. Hasil pengamatan nilai total BAL madu dapat dilihat pada Lampiran 13. Nilai rata-ran pH madu disajikan pada Tabel 5. Perhitungan hasil analisis pH madu menggunakan ANOVA disajikan pada Lampiran 14.

Tabel 4. Nilai rata-ran pH madu

Perlakuan Tiga Jenis Lebah Madu	Nilai pH
P1 (Lebah <i>Apis mellifera</i>)	4,23 ^b ±0,13
P2 (Lebah <i>Apis cerana</i>)	3,29 ^a ±0,10
P3 (Lebah <i>Trigona sp</i>)	3,70 ^a ±0,02

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada masing-masing perlakuan ($P<0,01$).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan tiga jenis lebah madu memberikan perbedaan yang sangat nyata ($P<0,01$) terhadap nilai pH madu. Semakin rendah nilai menunjukkan bahwa madu semakin asam. Secara umum madu mempunyai nilai pH 3,9 dengan rentang 3,4-6,1. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jenis lebah madu berpengaruh sangat nyata terhadap nilai pH madu. Nilai pH berkisar antara 3,29-4,23. Madu dari lebah *Apis cerana* memiliki nilai pH terendah yaitu 3,29, sedangkan madu dari lebah *Apis mellifera* memiliki nilai pH tertinggi yaitu 4,23.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Joshi *et al.*, (2000) membandingkan madu dari *Apis mellifera*, *Apis dorsata* dan *Apis cerana* menghasilkan nilai pH antara 3,52-3,68. Nilai pH madu *Trigona sp* sebesar 3,70. Menurut Souza *et al.*, (2006) nilai pH madu dari *stingless bee* sangat beragam yaitu 3,27-3,93. Menurut Chanchao (2009) menambahkan bahwa pH madu *Trigona laeviceps* sebesar 3,37. Rendahnya nilai pH akan berhubungan dengan pertumbuhan *yeast* pada madu. Semakin rendah pH madu, pertumbuhan *yeast* akan semakin cepat. Menurut Osachlo (2004) *yeast* dapat tumbuh dalam kondisi pH rendah dan tingkat sukrosa yang tinggi.

Hasil uji lanjutan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) menunjukkan bahwa madu P1 (*Apis mellifera*) memberikan nilai pH paling tinggi. Madu memiliki pH yang cukup rendah karena adanya kandungan asam organik dalam madu, antara lain asetat, butirat, format, laktat, glukonat, oksalat, maleat, 2/3-fofogliserat, sitrat, α -ketoglutarat, glikolat, piruvat, α/β -gliserofosfat, pryoglutamat, suksinat, dan glukosa-6-fosfat. Madu sangat stabil terhadap pertumbuhan mikroorganisme karena pH yang rendah. Menurut Jaya (2017) jenis asam yang paling utama dalam madu adalah asam glukonat yang dihasilkan oleh dektrosa melalui kerja enzim glukosa oksidase. Kisaran nilai pH madu tidak ada batas yang ditentukan nasional maupun internasional (Silva *et al.*, 2004) tetapi parameter ini sangat penting untuk penyimpanan madu serta pengaruh perkembangan mikroorganisme dan enzim. Hal ini juga mempengaruhi sifat fisik produk seperti tekstur, stabilitas dan ketahanan.

4.5. Nilai Aw Madu Lebah *Apis mellifera*, *Apis cerana* dan *Trigona sp*

Aktivitas air adalah air bebas yang bebas terkandung dalam madu yang digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Hasil pengamatan nilai Aw madu dapat dilihat pada Lampiran 15. Nilai rata-ran Aw madu disajikan pada Tabel 6. Perhitungan hasil analisis Aw madu menggunakan ANOVA disajikan pada Lampiran 16.

Tabel 5. Nilai rata-ran Aw madu

Perlakuan Tiga Jenis Lebah Madu	Nilai Aw
P1 (Lebah <i>Apis mellifera</i>)	0,788 ^a ± 0,019
P2 (Lebah <i>Apis cerana</i>)	0,647 ^b ± 0,011
P3 (Lebah <i>Trigona sp</i>)	0,827 ^c ± 0,003

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada masing-masing perlakuan ($P < 0,01$).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan tiga jenis lebah madu memberikan perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap nilai Aw madu. Nilai Aw yang semakin rendah nilai menunjukkan bahwa madu semakin rendah kadar air. Secara umum madu mempunyai nilai Aw 0,5-0,6. Menurut Zamora, Chirife dan Rolda (2006) aktivitas air terutama ditentukan oleh adanya senyawa kimia terlarut. Secara umum kandungan gula madu yang paling dominan ialah fruktosa dan glukosa. Hal karena karakteristik fisik dari setiap madu yang dihasilkan oleh tiap jenis lebah berbeda-beda, sehingga terjadi perbedaan Aw. Menurut Pramesti (2014) jenis lebah mempengaruhi 45,29% nilai Aw. Hal ini

disebabkan oleh perbedaan jenis sarang lebah *Trigona sp* yang berbeda dengan *Apis mellifera* maupun *Apis cerana*. Lebah *Apis mellifera* dan *Apis cerana* menyimpan madu pada bagian atas sisir sarang. Sel yang penuh dengan madu akan ditutup lilin, sedangkan pada sarang lebah *Trigona sp* pot-pot madu dibiarkan terbuka. Madu yang tidak tertutup ini akan menarik air dilingkungan sekitarnya karena sifat higroskopis madu sehingga meningkatkan kadar air serta aktivitas air madu. Nilai aktivitas air tertinggi diperoleh dari lebah *Trigona sp* yaitu sebesar 0,827. Hal ini lebih tinggi dari Oddo *et al.*, (2008) menyatakan bahwa nilai Aw madu *Trigona carbonaria* yaitu sebesar 0,74. Menurut Kacaniova (2007) menyatakan bahwa aktivitas air yang meningkat mempengaruhi umur simpan madu dan mendukung pertumbuhan yang tidak diinginkan mikroflora, terutama *yeast osmotolerant*. Kenaikan nilai Aw madu lebah *Trigona sp* berbanding lurus dengan tingginya nilai TPC madu. Menurut Abramovic *et al.*, (2007) bahwa Aw salah satu faktor penting dalam menentukan aktivitas enzim dan pertumbuhan serta kelangsungan hidup mikroorganisme pada madu adalah aktivitas air. Menurut Jaya (2017) aktivitas air pada madu bergantung pada suhu dan kadar air, walaupun begitu asam madu memiliki pengaruh sedikit terhadap sifat aktivitas air madu. Aktivitas air madu yang sering dijumpai di laboratorium pada suhu antara 4°C-37°C dengan kadar air 16% adalah 0,5 dan pada kadar air 18,3% adalah 0,6.

Hasil uji lanjutan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) menunjukkan bahwa madu P3 (*Trigona sp*) memberikan nilai Aw paling tinggi. Hal ini karena karakteristik kimia terutama kadar air madu yang dihasilkan oleh lebah *Trigona sp* memiliki kadar air lebih tinggi apabila

dibandingkan dengan madu dari lebah *Apis mellifera* dan *Apis cerana*. Menurut Sabtika (2018) menyatakan bahwa kadar air madu *Trigona sp* sebesar 35%. Tingginya nilai Aw madu dari lebah *Trigona sp* disebabkan oleh kelembaban yang tinggi. Menurut Adam dan Moss (2008) daerah yang mempunyai Aw tinggi dapat menjadi tempat pertumbuhan mikroorganisme.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Perlakuan madu dari nektar kaliandra yang dihasilkan tiga jenis lebah madu memberikan pengaruh terhadap nilai TPC, total *yeast*, total BAL, pH, dan Aw. Madu dari lebah *Trigona sp* ditinjau dari nilai TPC tertinggi sebesar 7,33 log cfu/g, total BAL 4,60 log cfu/g dan nilai Aw 0,827. Madu dari lebah *Apis cerana* ditinjau dari nilai total *yeast* tertinggi 7,20 log cfu/g, dan nilai pH tertinggi sebesar 4,23 terdapat dalam madu lebah *Apis mellifera*. Madu dari lebah *Apis mellifera* merupakan madu dengan kualitas terbaik bila ditinjau dari kualitas mikrobiologi dan sifat fisik.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kualitas mikrobiologi madu yang dipanen dengan teknik ekstraksi menggunakan ekstraktor serta penggunaan jenis lebah madu lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abramovic, H., M. Jamnik. L. Burkan and M. Kac. 2008. Water activity and water content in Slovenian honeys. *Science Direct Food Control* 19: 1086–1090.
- Adams, M.R., and M.O. Moss. 2008. *Food Microbiology*. Third Ed. The RSC Pub. Cambridge CB, WF: UK.
- Adenekan, M. O., N. A. Amusa, V. E Okpeze and A. Owosibo. 2012. Nutritional And Microbiological Components Of Honey Samples Obtained From Ogun State, Southwestern Nigeria. *European Journal of Sustainable Development*. 1 (2): 271-286.
- Anonymous. 2001. Food and Drug Administration. *Bacteriological Analytical Manual : Aerobic Plate Count*. Laboratory Methods. MD, USA. Hal: 2-3.
- AOAC. 2005. *Official Method Of Analysis Of The Association Of Official Analytical Chemist*. Benyamin Franklin Station: Washington, DC.
- Aristya, A. L., M. Anang, Legowo, dan A. N. Al-Baarri. 2013. Total Asam, Total Yeast, dan Profil Protein Kefir Susu Kambing dengan Penambahan Jenis dan Konsentrasi Gula yang Berbeda. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 4 (7): 12-16.

Arraez R.D., C.A.M Gomez, R.M Gomez, G.A Fernandez and C.A Segura. 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmac Bio Anal.* 41 (1): 12-26.

Aween, M.M., Z. Hassan, B.J. Muhiaddin., H.M. Noor, Y.A. Eljamel and M.N. Lani, 2012. Antibacterial Activity of *Lactobacillus acidophilus* Strains Isolated from Honey Marketed in Malaysia against Selected multiple Antibiotic Resistant (MAR) Gram-Positive Bacteria. *Journal of Food Science.* 7 (7): 364-371.

Bachrudin, Z.A dan Y.S. Dewi. 2000. Isolasi dan seleksi mikroba penghasil laktat dan aplikasinya pada fermentasi. *Limbah Industri Tahu. Prosiding Seminar Nasional Industri Enzim dan Bioteknologi. Mikrobiologi Enzim dan Bioteknologi.*

Badan Standardisasi Nasional. 2013. Madu. Standar Nasional Indonesia (SNI). 01-3545- 2013. Madu. Dewan Standarisasi Indonesia. Jakarta.

Baroni, M.V., C. Arrua, M.L Nores, P. Faye, M. de. P Diaz, G.A. Chiabrando, and D.A Wunderlin. 2009. Composition of honey from Cordoba (Argentina: Assessment of North/South provenance by chemometrics. *Food Chemistry* 114 (2): 727–733.

Bogdonov, S. 2011. *The Honey Book*, Chapter 5. Bee Product Science.

Cahyono, D., M. C. Padaga dan M. E. Sawitri. 2013. Kajian Kualitas Mikrobiologis (Total Plate Count (TPC), *Enterobacteriaceae* dan *Staphylococcus Aureus* Susu Sapi Segar di Kecamatan Krucil Kabupaten Probolinggo. Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak. 8 (1) :1-8

Chamberlain, J.R. 2000. Meningkatkan Produksi Benih *Calliandra calothyrsus*. London: Oxford Forestry Intsitute.

Chanchao C. 2009. Antimicrobial activity by *Trigona laeviceps* (stingless bee) honey from Thailand. Pak J Med Sci. 25 (3): 364-369.

Chaven, S. 2014. Chapter 11 – Honey, Confectionery and Bakery Products Food Safety Management.

Chirife, J., M.C. Zamora dan A. Motto. 2006. The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. J Food Eng. 72(3):287-292

Cooper, R. 2005. Chapter 2 – The antimicrobial activity of honey. Honey: A Modern Wound Management Product. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 56 (1): 228-231.

Djajasaputra, M. R. S. 2010. Potensi Budidaya Lebah *Trigona* dan Pemanfaatan Propolis sebagai Antibiotik Alami

untuk Sapi PO. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Grabowski, N.T. and G. Klein. 2015. Microbiology and food-borne pathogens in honey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 21 (1): 1-38.

Hamzah, D. 2011. Produksi Lebah Madu (Apis cerana) yang Dipelihara pada Sarang Tradisional dan Modern di Desa Kuapan Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar. Skripsi. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Pekanbaru.

Harakan, M. A. 2016. Intensitas Warna, Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan Pada Empat Jenis Madu Monoflora. Skripsi. Universitas Brawijaya.

Hardiningsih, R., R.N.R Napitupulu dan T. Yulinery. 2006. Isolasi dan uji resistensi beberapa isolat *Lactobacillus* pada pH rendah. *Biodiversitas* 7 (1): 15- 17.

Haviva, A.B. 2011. Dahsyatnya Mukjizat Madu Untuk Kesehatan, Kecantikan Dan Kecerdasan. Yogyakarta: DIVA Press.

Hendrati, R. L. dan N. Hidayati. 2014. Budidaya Kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) untuk Bahan Baku Sumber Energi. Jakarta: IPB Press.

- Hidayat, I. R., Kusrahayu dan S. Mulyani. 2013. Total Bakteri Asam Laktat, Nilai pH dan Sifat Organoleptik Drink Yoghurt dari Susu Sapi yang Diperkaya dengan Ekstrak Buah Mangga. *Animal Agriculture Journal*. 2 (1):160 – 167.
- Husmaini., M.H Abbas, E. Purwati, A. Yuniza, and A.R Alimon. 2011. Growth and survival of lactic acid bacteria isolated from by product of virgin coconat oil as probiotic candidate for poultry. *Internasional journal of poultry science* 10 (4): 309-314.
- Ilyasov, R.A., M.N. Kosarev, A. Neal, and F.G Yumaguzhin. 2015. Burzyan Wild-Hive Honeybee *A.M. mellifera* in South Ural. *Bee World* 92 (1): 7-11.
- Istinah, N. dan S. Gunawan. 2017. Kinetika Fermentasi Asam Laktat dari Tepung Sorgum Menggunakan Baker's Yeast dan *L. Plantarum*. *Jurnal Rekayasa Bahan Alam dan Energi Berkelanjutan*. 1(2) : 49-55.
- Jaya, F. 2017. Produk – Produk Lebah Madu dan Hasil Olahannya. Malang: UB Press.
- Jensen, M. 2007. Beekeeping With *Apis Cerana Indica* Some Important Aspects Of Colony Management. Borup: Danish Beekeepers Association.
- Joshi, S.R., H. Pechhacker, A. William and W.V.D Ohe. 2000. Physico-chemical characteristics of *Apis dorsata*,

A. cerana and A. mellifera honey from Chitwan district, central Nepal. *Apidologie* 31 (1): 367-375.

Junus, M. 2017. *Produksi Lebah Madu*. Malang: UB Press.

Kacaniova, M., M. Sudzina., J. Sudzinova., M. Fikselova., J. Cubon and P. Hascik. 2007. Microbiological and physico-chemical quality of honey collected from different Slovak habitats. *Slovak Journal of Animal Science* 40(1) : 38-43.

Kumar, S.M., A.J.A. Ranjit Singh and G. Alagumuthu. 2012. Traditional beekeeping of stingless bee (*Trigona sp.*) by Kani tribes of Western Ghats, Tamil Nadu, India. *Indian Journal of traditional Knowledge* 11(2): 342-345.

Kustyawati, E.M. 2016. *Signifikasi khamir dalam pangan*. Yogyakarta: Plantaxia.

Mendes, C.G. J.B.A Silva, L.X Mesquita, and P.B Maracajá. 2009. Asanálises de mel: Revisão. *Rev Caatinga* 22 (1): 7-14.

Minarti, S., F. Jaya dan P.A Merlina. 2016. Pengaruh Masa Panen Madu Lebah Pada Area Tanaman Kaliandra (*Calliandra Calothyrsus*) Terhadap Jumlah Produksi Kadar Air, Viskositas Dan Kadar Gula Madu. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak* 11(1): 46 51.

- Ngoi, V. 2012. Effect Of Processing Treatment on Antioxidant, Physicochemical and Enzymatic Properties of Honey (*Trigona* spp.). Project Report. Universiti Tunku Abdul Rahman.
- Oddo, L.P., T.A. Heard., A. Rodríguez-Malaver., R.A. Pérez., M. Fernández-Muiño., M.T. Sancho., G. Sesta., L. Lusco., P. Vit. 2008. Composition and antioxidant activity of *Trigona carbonaria* honey from Australia. *J Med Food*. 11(4):789-794.
- Olga, E., F.G Maria and S.M. Carmen. 2012. Differentiation of Blossom Honey and Honeydew Honey from Northwest Spain. *Agriculture* 2 (1): 25-37.
- Olofsson, T.C., and A. Vásquez. 2008. Detection and identification of a novel lactic acid bacterial flora within the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. *Curr. Microbiol*. 57(4): 356–363.
- Osachlo, L. 2004. Aplicação do sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle no processamento industrial de mel de abelhas (*Apis mellifera*). *Food Chem* 99 (3): 66-79.
- Omafuvbe, B.O., and O.O. Akanbi. 2009. Microbiological and physicochemical properties of some commercial Nigerian honey. *African Journal of Microbiology Research*, 3(12): 891-896.

- Pramesti, A.G. 2014. Karakteristik Fisik Madu dari Lebah Apis mellifera, Apis dorsata, Apis cerana dan Trigona sp. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Puspawati N.N., L. Nuraida. dan D.R Adawiyah. 2010. Penggunaan Berbagai Jenis Bahan Pelindung untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari Air Susu Ibu pada Proses Pengeringan Beku. J Teknol Ind Pangan. 2(2): 59-65.
- Riendriasari, D. S dan Krisnawati. 2017. Produksi Propolis Mentah Lebah Madu *Trigona sp.* Di Pulau Lombok. Jurnal Hutan Tropis 1 (1): 71-75.
- Rofi'i, F. 2009. Hubungan antara Jumlah Total Bakteri dan Angka Katalase terhadap Daya Tahan Susu. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Róžańska, H. 2011. Microbiological quality of polish honey. Bulletin Veterinary Institute Pulawy 55 (10): 443-445.
- Sabtika, L.O. 2018. Pengaruh Jenis Lebah Madu yang Berbeda di Area Tanaman Kaliandra Terhadap Kadar Air, Keasaman, Gula Pereduksi, Aktivitas Enzim Diastase dan Hidromethylfurfural (HMF). Skripsi. Universitas Brawijaya.
- Sadam, B., N. Hariani dan S. Fachmy. 2016. Jenis Lebah Madu Tanpa Sengat (Stingless Bee) di Tanah Merah Samarinda). Prosiding Seminar Sains dan Teknologi FMIPA Unmul 1 (3): 374-378.

- Saxena, S., S. Gautam. and A. Sharma. 2010. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chem* 118 (5): 391–397.
- Setiawan, A., R. Sulaeman dan T. Arlita. 2016. Strategi Pengembangan Usaha Lebah Madu Kelompok Tani Setia Jaya di Desa Rambah Jaya Kecamatan Bangun Purba Kabupaten Rokan Hulu. *Jom Faperta* 3 (1): 1-9.
- Sihombing, D.T.H. 2015. Ilmu Ternak Lebah Madu. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Silva, C.L., A.J.M Queiroz and R.M.F. Figueiredo. 2004. Physical and chemical Characterization of honeys produced in the State of Piauí - Brazil. *Rev. bras. Eng Agríc Ambient.* 8 (3): 260-265.
- Sodré, G.S. L.C Marchini, A.C.C.C Moreti, I.P Otsuk, and C.A.L Carvalho. 2007. Caracterização físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) do Estado do Ceará. *Cienc Rural* 37 (2): 1139-1144.
- Souza, B., D. Roubik., O, Barth., T, Heard., E, Enriquez., C. Carvalho., J. Villas-Boas., L, Marchini., J, Locatelli., L. Persano-Oddo. 2006. Composition of stingless bee honey: setting quality standards. *Interciencia.* 31(12) : 867-875.

- Suardana, W. 2007. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Cairan Rumen Sapi Bali sebagai Kandidat Biopreservatif. *Jurnal Veteriner*. 8 (4) : 155-159.
- Suhartatik, N., M.N. Cahyanto, S. Rahardjo, M. Miyashita and E.S. Rahayu, 2014. Isolation and identification of lactic acid bacteria producing β glucosidase from Indonesian fermented foods. *International Food Research Journal*. 21 (3): 973-978.
- Sulistyorini, C.A. 2006. Inventarisasi Tanaman Pakan Lebah Madu Apis cerana Ferb Di Perkebunan Teh Gunung Mas Bogor. Skripsi: Institut Pertanian Bogor.
- Suranto A. 2007. Terapi madu. Penebar plus. Jakarta.
- Suriasih, K., W. R. Aryanta, G. Mahardika and N. M. Astawa. 2012. Microbiological and Chemical Properties of Kefir Made of Bali Cattle Milk. *Food Science and Quality Management* 6(2): 12-22.
- Ulfiana, R., G. Mahasri dan H. Suprpto. 2012. Tingkat Kejadian Aeromonosis pada Ikan Koi (*Cyprinus Carpio*) yang Terinfeksi *Myxobolus* Koi pada Derajat Infeksi yang Berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan an Kelautan*. 4(2): 169-175.
- Vázquez-Quinones, C.R., R. Moreno-Terrazas., I. Natividad-Bonifacio., E.I. Quinones-Ramírez., C. Vázquez-Salinas. 2017. Microbiological assessment of honey

in México. *Revista Argentina De Microbiología* 6(1) : 1-6.

Widiarti, A dan Kuntadi. 2012. Budidaya lebah madu *Apis mellifera* oleh masyarakat pedesaan Kabupaten Pati Jawa Tengah. Pusat Litbang Konservasi dan Rehabilitasi. Bogor.

Wulandari, D.D. 2017. Kualitas Madu (Keasaman, Kadar Air, Dan Kadar Gula Pereduksi) Berdasarkan Perbedaan Suhu Penyimpanan. *Jurnal Kimia Riset* 2 (1): 16-22.

Yunita, M., Y. Hendrawan dan R. Yulianingsih. 2015. Analisis Kuantitatif Mikrobiologi pada Makanan Penerbangan (Aerofood ACS) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (Total Plate Count) dengan Metode Pour Plate. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*. 3 (3) : 237-248.

Zamora, M. C., J. Chirife and D. Rolda. 2006. On the nature of the relationship between water activity and % moisture in honey. *Food Control* 17(8): 642–647.